

Tubérisation sous stress salin de vitroplants de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.)

Chérif Hannachi ⁽¹⁾, Pierre Debergh ⁽²⁾, Ezzedine Zid ⁽³⁾, Abir Messai ⁽¹⁾, Tijani Mehouchi ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Laboratoire des Cultures maraîchères. École supérieure d'Horticulture et d'Élevage. 4042 Chott-Mariem. Sousse (Tunisie).

⁽²⁾ Laboratoire d'Horticulture. Faculté des Sciences agronomiques. Coupure links 653. 9000 Gand (Belgique).

⁽³⁾ Laboratoire de Physiologie végétale. Faculté des Sciences naturelles. Campus universitaire. 1060 Tunis (Tunisie).

⁽⁴⁾ Laboratoire des Cultures maraîchères. École supérieure d'Agronomie de Mograne. 1121 Zaghouane (Tunisie).

Reçu le 15 janvier 2003, accepté le 22 janvier 2004.

Au champ, à Chott-Mariem (Tunisie), des plants de pomme de terre de la variété Claustar, régénérés *in vitro* sur cal adapté au sel (3 g·l⁻¹ de NaCl), tubérisent en présence de 4 g·l⁻¹ de NaCl. Ces plantes adaptées au stress salin se montrent aussi performantes que les plantes régénérées sur cal non adapté au NaCl et irriguées avec une eau douce quant au nombre de tubercules par plante et au poids frais moyen des tubercules. Cependant, les tubercules des plantes adaptées au stress salin manifestent une réduction de leur diamètre ainsi que du nombre d'yeux et une fissuration profonde de l'épiderme lorsque les plantes sont cultivées sous irrigation saline. Selon ces résultats, l'amendement organique du sol (teneur supérieure à 1 %) est donc à recommander pour exploiter les eaux saumâtres (3 à 4 g·l⁻¹ de NaCl) de la région du Sahel (Mahdia, Monastir et Sousse).

Mots-clés. Pomme de terre, régénération *in vitro*, NaCl, tolérance au sel, tubérisation au champ, Tunisie.

Tuberisation under salt stress of potato vitroplants (*Solanum tuberosum* L.). In Chott-Mariem (Tunisia), potato plants of Claustar variety, regenerated *in vitro* from a salt-adapted cal (3 g·l⁻¹ of NaCl) and cultivated in presence of NaCl concentration of 4 g·l⁻¹ have tuberised. These adapted plants were as outstanding as plants regenerated from a control cal and irrigated with NaCl-free water, relating to the number of tubers per plant and the average fresh weight of tuber. However, tubers of NaCl-adapted plants have shown a reduction in diameter and bud number, and they were affected by a deep fissuring when grown under irrigation with saline water. These results suggest that increasing the level of organic matter above 1 % in soil can be recommended in order to overcome such abnormalities, caused by salinity and saline water use (3 to 4 g·l⁻¹ of NaCl) in the Sahel region (Mahdia, Monastir and Sousse).

Keywords. Potato, regeneration *in vitro*, NaCl, salt tolerance, field tuberisation, Tunisia.

1. INTRODUCTION

En Tunisie, l'apport massif d'engrais chimiques et l'irrigation avec des eaux saumâtres constituent une contrainte majeure pour le développement de la pomme de terre, culture stratégique pour le pays (Azzouz, 1996) en termes de surface emblavée et de rendement agronomique. En effet, la pomme de terre est une plante sensible à la salinité et son niveau de tolérance varie de 1,5 à 2 g·l⁻¹ de NaCl (Maas, 1986). À la concentration de 3 g·l⁻¹, ce sel diminue de 50 % la croissance de la plante (Bouaziz, 1980).

L'amélioration génétique par sélection classique de croisements en vue d'obtenir des génotypes tolérants à la salinité s'avère une approche relativement difficile

à appliquer en raison du temps qu'elle requiert (Bajaj, 1987). Par contre, la sélection par culture *in vitro* peut être une voie prometteuse pour améliorer la tolérance de cette espèce au stress salin, cette approche biotechnologique ayant été utilisée avec succès dans la sélection de génotypes tolérants au stress salin chez d'autres Solanacées, comme la tomate (Bourgeois *et al.*, 1987 ; Liu, Li, 1991), l'aubergine (Jain *et al.*, 1987) et le tabac (Nabors *et al.*, 1980). Quant à l'espèce *Solanum tuberosum* L., la sélection de la tolérance se limite à l'échelle des cellules (Sabbah, Tal, 1990 ; Leone *et al.*, 1994) et des microboutures non régénérées *in vitro* (Zhang, Donnelly, 1997 ; Khrais *et al.*, 1998), sans qu'elle soit confirmée au champ. Ainsi, dans le but de vérifier agronomiquement la tolérance au stress salin

mise en évidence *in vitro*, des minitubercules issus des plantes de pomme de terre de la variété Claustar, régénérées sur cal caulinaire adapté au sel, sont cultivés au champ et irrigués avec une eau saumâtre. Les résultats obtenus font l'objet du présent article.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le matériel végétal se compose de minitubercules (poids frais moyen = 7 g) de pomme de terre de la variété Claustar, réputée pour son bon rendement (Soltner, 1983). Les minitubercules sont produits par des plantes régénérées sur cal caulinaire adapté au NaCl à 3 g·l⁻¹ et irriguées avec une eau contenant 3 g·l⁻¹ de NaCl ou des plantes régénérées sur cal caulinaire non adapté au stress salin et irriguées avec une eau douce. Chacune de ces deux catégories de minitubercules est divisée en deux lots ; chez le premier lot, l'irrigation est effectuée avec une eau enrichie en NaCl à 4 g·l⁻¹. Tandis que le deuxième lot est irrigué avec une eau dépourvue de NaCl. Les quatre traitements ainsi conçus sont répartis au champ en blocs aléatoires, chaque traitement est répété 3 fois avec 10 plantes par répétition.

En ce qui concerne la conduite de l'essai au champ, la densité de plantation est de 4,8 plantes par m² (30 cm × 70 cm). L'eau d'irrigation a une conductivité de 1,4 mS·cm⁻¹ et un pH de 6,2. Sa composition chimique, exprimée en méq·l⁻¹, est la suivante : Ca²⁺ (7,4), K⁺ (0,1), Na⁺ (4,9) et Cl⁻ (5,9). Le sol de Chott-Mariem est composé d'argile (11,5 %), de limon (22,5 %), de sable (61 %) et de matière organique (1 %). Son pH est de 7,6. Les quantités de fumures minérale et organique, recommandées dans la région de Chott-Mariem pour la culture de la pomme de terre (Ben Khedher, Baccouche, 1989) et utilisées dans nos essais, sont le fumier de ferme (30 t·ha⁻¹), l'azote sous forme de nitrate d'ammonium à 33 % de N (100 kg·ha⁻¹), le phosphore sous forme de superphosphate triple à 45 % de P₂O₅ (150 kg·ha⁻¹) et le potassium sous forme de sulfate de potasse à 54 % de K₂O (400 kg·ha⁻¹). La quantité de potassium a été augmentée pour renforcer la tolérance de la plante à la salinité (Alhag Dow *et al.*, 1999).

Durant la période de culture, du 16 octobre au 20 janvier, les relevés météorologiques mensuels établis chaque jour à 12 h donnent 8 °C minima et 23 °C maxima de régime thermique, une intensité lumineuse de 161 W·m⁻², une photopériode moyenne de 10 h et une hygrométrie de l'air de 75 %.

Le nombre de tubercules par plante et leur poids frais moyen sont enregistrés. Par tubercule, sont déterminés le diamètre de la section équatoriale et le nombre d'yeux. Les analyses statistiques de ces mesures biologiques sont faites au seuil de 5 % (analyses des variances).

3. RÉSULTATS

Après 97 jours de culture sous stress salin (NaCl à 4 g·l⁻¹), période à la fin de laquelle les tubercules atteignent le stade de maturité physiologique chez la variété Claustar (Hannachi, 1996), les performances de tubérisation des plantes régénérées à partir d'un cal adapté à la salinité (NaCl 3 g·l⁻¹) sont comparées à celles des plantes régénérées sur le cal témoin. Le **tableau 1** montre que les plantes adaptées au NaCl et irriguées avec une eau témoin ne diffèrent pas significativement des plantes témoins, par le nombre de tubercules par plante, le poids frais moyen des tubercules, et donc par le rendement en tubercules. Par contre, pour les des deux derniers paramètres (le poids et le rendement), la présence de 4 g·l⁻¹ de NaCl dans l'eau d'irrigation a permis de dégager des différences entre les deux types de plantes ; en effet, le rendement en tubercules des plantes adaptées est plus du double de celui des plantes témoins et le poids frais moyen des tubercules se trouve augmenté de près de 50 %. Par ailleurs, il apparaît que les plantes adaptées au NaCl et irriguées avec une eau chargée de 4 g·l⁻¹ de NaCl peuvent avoir des performances agronomiques presque similaires (nombre de tubercules par plante et rendement en tubercules par plante) ou supérieures (poids frais moyen des tubercules) à celles des plantes témoins et irriguées avec une eau témoin.

En présence ou en l'absence du NaCl dans l'eau d'irrigation, le diamètre des tubercules des plantes adaptées au NaCl n'est pas statistiquement différent de celui des tubercules des plantes témoins. Cependant, ce paramètre présente une chute significative pour les deux types de plantes lorsque l'eau d'irrigation est additionnée de NaCl. De plus, le sel présent dans le milieu de régénération (*in vitro*) et dans l'eau d'irrigation (champ) réduit le nombre d'yeux à la surface de l'épiderme du tubercule (**Tableau 2**).

Tableau 1. Étude de la tubérisation des plantes de pomme de terre (variété Claustar) régénérées sur cal adapté au NaCl 3 g·l⁻¹ ou sur cal témoin et irriguées au champ pendant 97 jours — *Potato tuberisation study of plants, Claustar variety, regenerated from a salt-adapted callus 3 g·l⁻¹ NaCl or a control callus and irrigated in field during 97 days.*

Paramètres mesurés	Eau douce		Eau + NaCl (4 g·l ⁻¹)	
	Témoin*	NaCl**	Témoin*	NaCl**
Nombre de tubercules par plante	7,9 ^a	8,2 ^a	5,6 ^a	7,6 ^a
Poids moyen du tubercule (en g de MF)	14,5 ^b	13,2 ^b	11,0 ^c	16,8 ^a
Rendement (en g de MF) par plante	114,5 ^{ab}	108,2 ^b	61,6 ^c	127,7 ^a

* = Plantes régénérées sur cal témoin; ** = Plantes régénérées sur cal adapté au NaCl 3 g·l⁻¹; MF = Matière fraîche.

Tableau 2. Caractéristiques morphologiques des tubercules de pomme de terre (variété Claustar), des plantes régénérées sur cal adapté au NaCl 3 g·l⁻¹ ou sur cal témoin et irriguées au champ pendant 97 jours avec une eau enrichie en NaCl 4 g·l⁻¹ — *Morphological characteristics of potato tubers, Claustar variety, regenerated from a salt-adapted callus 3 g·l⁻¹ NaCl or a control callus and irrigated in field during 97 days.*

Paramètres mesurés	Eau douce		Eau + NaCl (4g·l ⁻¹)	
	Témoin*	NaCl**	Témoin*	NaCl**
Diamètre du tubercule (cm)	3,10 ^a	2,61 ^a	2,30 ^b	2,54 ^b
Nombre d'yeux par tubercule	6,8 ^a	4,5 ^b	5,5 ^b	4,3 ^b

* = Plantes régénérées sur cal témoin; ** = Plantes régénérées sur cal adapté au NaCl 3 g·l⁻¹.

En outre, les tubercules des plantes stressées par le sel (plantes témoins et plantes adaptées) peuvent être exposés à la fissuration plus ou moins profonde dès que leur poids frais dépasse 20 g (**Figure 1**). Ces blessures ainsi formées permettent non seulement l'entrée de champignons, comme le mildiou (*Phytophthora infestans* L.), agent de pourriture, mais entraînent également la destruction de la majorité des yeux, facteur déterminant du rendement en tubercules par plante (Harris, 1982). Par conséquent, après deux mois de conservation à la température ambiante (20°C), les tubercules endommagés ne présentent pratiquement pas de germes.

4. DISCUSSION

Les résultats, obtenus au champ, montrent que les plantes régénérées *in vitro* sur cal adapté au NaCl à 3 g·l⁻¹ et irriguées avec une eau chargée de 4 g·l⁻¹ de NaCl ont pu tubériser. Cette tolérance des cellules au stress salin, notée *in vitro* (milieu stable), qui s'est exprimée chez les plantes régénérées, malgré l'instabilité des conditions environnementales du champ, a également été confirmée chez le blé (*Triticum aestivum* L.) au moyen de plantes régénérées *in vitro* sous contrainte saline à partir de grains de pollen et cultivées au champ (Piri, 1991).

En effet, les plantes régénérées sur cal adapté au stress salin et irriguées avec une eau chargée en NaCl se montrent aussi performantes que les plantes régénérées sur cal témoin et irriguées avec une eau douce, pour ce qui est du nombre de tubercules par plante, du poids frais des tubercules et du rendement en tubercules par plante. Ces résultats vérifient bien ceux de Alhag Dow *et al.* (1999) sur la variété de

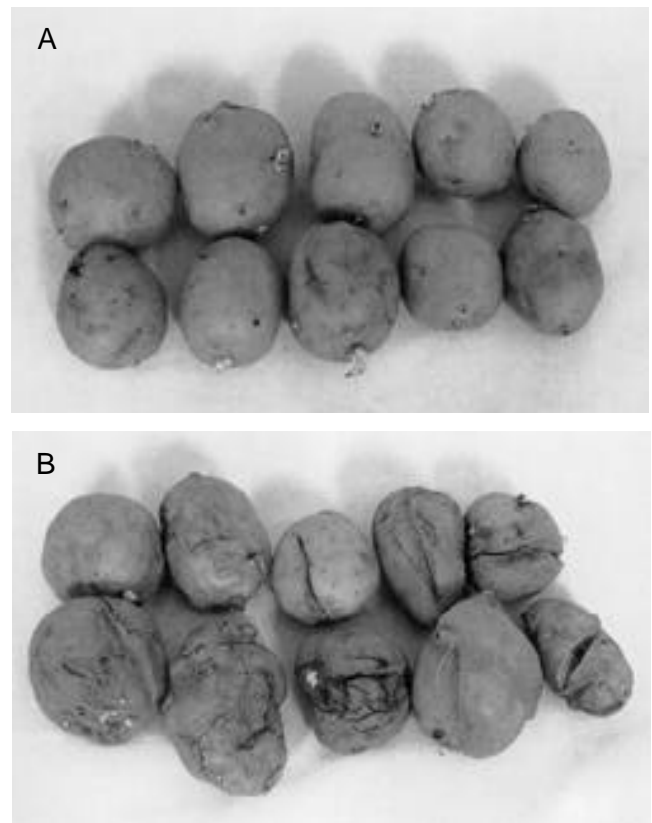


Figure 1. Tubercules de pomme de terre, variété Claustar, produits par des plantes régénérées sur cal adapté au NaCl 3 g·l⁻¹ et irriguées au champ pendant 97 jours avec une eau enrichie en NaCl 4 g·l⁻¹ (A = tubercules de poids inférieur à 20 g ; B = tubercules de poids supérieur à 20 g) — *Potato tubers, Claustar variety, produced by plants regenerated from a salt-adapted callus 3 g·l⁻¹ NaCl and irrigated with water containing 4 g·l⁻¹ NaCl, in field during 97 days (A = tuber weight below 20 g ; B = tuber weight above 20 g).*

pomme de terre Russet Burbank montrant que les vitroplants adaptés au NaCl et soumis au stress salin élaborent de la matière sèche et tubérisent au même titre que les vitroplants témoins, cultivés en absence du stress salin. Selon nos résultats, la possibilité de culture en milieu salé est attribuée à une tolérance au stress salin notée *in vitro* qui se caractérise par des teneurs élevées en Na⁺ et Cl⁻ (Hannachi, 1996). Ces deux ions sont généralement supposés être impliqués chez la pomme de terre dans l'ajustement osmotique, nécessaire au maintien du gradient de potentiel hydrique entre la cellule ou la plante et le milieu additionné de sels (Van Swaaij *et al.*, 1986 ; Sabbah, Tal, 1990 ; Sasikala *et al.*, 1993).

Chez les plantes adaptées, la présence du sel dans l'eau d'irrigation provoque la réduction du diamètre des tubercules, la diminution du nombre d'yeux par tubercule et la fissuration de l'épiderme du tubercule. Toutefois, le phénomène de fissuration n'a pas touché les tubercules des plantes irriguées avec une eau

témoin. Tous ces effets dépressifs du NaCl pourraient être atténués par un apport de matière organique dans le sol car selon Zuang (1982), la teneur de 1 % de matière organique dans le sol de Chott-Mariem n'est pas suffisante, elle devrait plutôt être comprise entre 3 et 5 % pour que l'action nocive des sels soit limitée. En effet, la tolérance au sel s'améliore avec l'accroissement du taux en matière organique (Zuang, 1982). Chez le riz par exemple, dès que la teneur en matière organique atteint ou dépasse les 3 %, les plantes régénérées sur anthères adaptées à la salinité et irriguées avec une eau chargée en sel présentent des bonnes performances agronomiques (Zapata *et al.*, 1991). De leur côté, Meiri *et al.* (1982) ont également montré qu'une eau chargée en sel peut être utilisée pour irriguer une culture de melon, espèce moyennement sensible à la contrainte saline (Zuang, 1982), à condition que le sol soit fortement enrichi en matière organique (teneur supérieure à 5%).

5. CONCLUSION

Des plantes de pomme de terre variété Claustar, régénérées sur cal adapté au NaCl 3 g.l⁻¹ et irriguées au champ pendant trois mois avec une eau chargée en NaCl 4 g.l⁻¹, ont produit des tubercules. Le nombre de tubercules par plante, le poids frais des tubercules et le rendement en tubercules par plante sont comparables à ceux des plantes régénérées sur cal témoin et irriguées avec une eau douce.

Chez les deux variétés (plantes adaptées et plantes témoins), le sel (4 g.l⁻¹) appliqué en cours de culture provoque une diminution tant du nombre d'yeux par tubercule que du diamètre du tubercule et engendre une fissuration des tubercules dès que le poids frais de ces derniers dépasse 20 g. Seul l'accroissement de la teneur en matière organique des sols (plus de 1 % dans le cas de Chott-Mariem) semble être une solution adéquate, non seulement pour atténuer ces anomalies du tubercule, mais également pour exploiter les eaux saumâtres de la région du Sahel (Mahdia, Monastir et Sousse) contenant de 3 à 4 g.l⁻¹ de NaCl.

Bibliographie

- Alhag Dow MM., Barthakur NN., Donnelly D. (1999). Salinity stress and sodium-potassium interactions in micropropagated potatoes. *Potato Res.* **42**, p. 73–78.
- Azzouz M. (1996). La pomme de terre en Tunisie. In Rousselle P., Robert Y., Crosnier JC. *La pomme de terre*. Paris : INRA, p. 552–577.
- Bajaj YPS. (1987). Biotechnology and 21st century potato. In Bajaj YPS. (Ed). *Biotechnology in agriculture and forestry*. Vol 3. *Potato*. Berlin: Springer-Verlag.
- Heidelberg, p. 3–22.
- Ben Khedher M., Baccouche M. (1989). Effets de la fumure azotée sur la croissance végétative et la tubérisation de la pomme de terre de primeur. *Rev. I.N.A.T.* **4** (2), p. 29–41.
- Bouaziz E. (1980). Tolérance à la salure de la pomme de terre. *Physiol. Vég.* **18**, p. 11–17.
- Bourgeois P., Guerrier G., Strullu DG. (1987). Adaptation au NaCl de *Lycopersicon esculentum* : étude comparative des cultures de cals ou de parties terminales de tiges. *Can. J. Bot.* **65**, p. 1991–1997.
- Hannachi C. (1996). *Amélioration de la tolérance de la pomme de terre (Solanum tuberosum L.) à la salinité (NaCl) par voie biotechnologique*. Thèse doct. Sci. Agron., Fac. Univ. Agron. Gand, Belgique, 152 p.
- Harris PM. (1982). *The potato crop. The scientific basis for improvement*. London: Chapman & Hall, ISBN 0-412 12830-6, 730 p.
- Jain RK., Dhawan RS., Sharma DR., Choudhury JB. (1987). Salt-tolerance and proline accumulation: a comparative study in salt-tolerant and wild type cultured cells of eggplant. *Plant Cell Rep.* **6**, p. 382–384.
- Khrais T., Leclerc Y., Donnelly DJ. (1998). Relative salinity tolerance of potato cultivars assessed by *in vitro* screening. *Am. J. Potato Res.* **75**, p. 207–210.
- Leone A., Costa A., Tucci M., Grillo S. (1994). Adaptation versus shock response to polyethylene glycol-induced low water potential in cultured potato cells. *Physiol. Plant* **92**, p. 21–30.
- Liu KB., Li SX. (1991). Effects of NaCl on element balance, peroxidase iso-enzyme and protein banding patterns of *Lycopersicon* leaf cultures and regenerated shoots. *Sci. Hort.* **46**, p. 97–107.
- Maas EV. (1986). Salt tolerance of plants. *Appl. Agric. Res.* **1**, p. 12–26.
- Meiri A., Hoffman GJ., Shannon MC., Poss MA. (1982). Salt tolerance of two muskmelon cultivars under two radiation levels. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **107** (6), p. 1168–1172.
- Nabors MW., Gibbs SE., Bernstein CS., Meis ME. (1980). NaCl-tolerant tobacco plants from cultured cells. *Z. Pflanzenphysiol.* **Bd 97**, p. 13–17.
- Piri K. (1991). *Contribution à la sélection in vitro de plantes androgéniques de blé pour leur tolérance au NaCl*. Thèse doct. Sci. Agron., Fac. Univ. Sci. Agron., Gembloux, Belgique, 168 p.
- Sabbah S., Tal M. (1990). Development of callus and suspension cultures of potato resistant to NaCl and mannitol and their response to stress. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **21**, p. 119–128.
- Sasikala D., Potluri P., Devi PD. (1993). Influence of salinity on axillary bud cultures of six lowland tropical varieties of potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* **32**, p. 185–191.
- Soltner D. (1983). La biologie de la pomme de terre et la sélection des plants. In Soltner D. *Les grandes*

- productions végétales. Phytotechnie Spéciale*, 13^e éd. Sainte-Gemmes-Sur-Loire, France : Sciences et Techniques Agricoles, p. 243–278.
- Van Swaaij N., Jacobsen E., Kiel J., Feenstra WJ. (1986). Selection, characterization and regeneration of hydroxyproline-resistant cell lines of *Solanum tuberosum* L: tolerance to NaCl and freezing stress. *Physiol. Plant.* **68**, p. 359–366.
- Zapata FJ., Alejar MS., Torrizo LB., Novero LU., Singh VP., Senadhira D. (1991). Field performance of anther-culture-derived lines from F1 crosses of Indica rices under saline and nonsaline conditions. *Theor. Appl. Genet.* **83**, p. 6–11.
- Zhang Y., Donnelly DJ. (1997). *In vitro* bioassays for salinity tolerance screening of potato. *Potato Res.* **40**, p. 285–295.
- Zuang H. (1982). *La fertilisation des cultures maraichères*. Paris : CTIFL, 395 p.
- (23 réf.)